

Raskere svar på mikrobiologisk vannkvalitet

Prosjekt: Badevann i Bærum

Av Ingunn Dale Samset

Ingunn Dale Samset er ansatt som forsker ved Colifast AS

Innledning

Om sommeren fylles badestrendene av ivrige badeturister. Hva er vel bedre enn en avkjølende dukkert på en varm sommerdag? Landet vårt er rikt på kyststrekninger, innsjøer og vassdrag som ligger vel til rette for bading. En del områder mottar imidlertid lokale utslipp av avløpsvann fra omliggende bebyggelse, industri eller jordbruk. Slike påvirkninger kan gi både direkte synlige forurensninger, økt næringstilførsel som kan føre til f.eks. algeoppblomstring, samt mulig overføring av smittsomme sykdommer. Den bakteriologiske kvaliteten av badevann påvirkes også i høy grad av ytre faktorer som nedbør, temperatur, flo/fjære, vind- og strømforhold.

Det medfører en viss helserisiko å bade eller drive aktiviteter i både sjøvann og ferskvann. Det er vist at risikoen for å bli syk ved bading i for-

urenset vann øker med økende innhold av tarmbakterier i vannet (1, 2, 3, 4). Helsemyndighetene stiller derfor hygieniske krav til badevannskvaliteten, bl.a. for å hindre sykdomsoverføring ved bading. Den mikrobiologiske vannkvaliteten overvåkes i dag ved å bestemme mengden indikatororganismer. Som analyseparametre for badevannskvalitet måles termotolerante koliforme bakterier (TKB), under gitte forhold supplert med fekale streptokokker. Det er bakteriegrupper som normalt forekommer i stort antall i tarmkanalen hos mennesker og varmblodige dyr. Indikatorbakteriene er som oftest ikke selv sykdomsfremkallende, men når disse bakteriene forekommer i vannet indikerer de at vannet er forurenset og derfor kan inneholde sykdomsfremkallende mikroorganismer.

Tabell 1. Normer for bakteriologisk badevannskvalitet utarbeidet av Folkehelse (5).

Mikrobiologisk parameter	God	Mindre god	Ikke akseptabel	Anbefalt prøvetakshyppighet, minimum
Termotolerante koliforme bakterier / 100ml	< 100	100-1000	> 1000	En gang pr. uke

Folkehelsa har utarbeidet normer for hva som er god, mindre god, og ikke akseptabel badevannskvalitet. Normene for vannkvaliteten ved friluftsbad er gitt i tabell 1 (5).

Analysering av badevannet har flere målsetninger (5):

- Vurdere den hygieniske vannkvaliteten ved et friluftsbad over lengre tid (basert på de siste 1-2 års analyse-resultater med minst 10 ulike prøvetakinger spredd over hver badesesong)
- Avsløre forurensningsepisoder og kartlegge årsaken til kvalitetsforringelsen, for dermed å kunne redusere risikoen for nye episoder
- Varsle publikum om badevannets kvalitet

Tradisjonelle analysemetoder for termotolerante koliforme bakterier krever ett døgn (Norsk Standard NS 4792, 1.utg. 1990). Disse metodene egner seg godt til å dokumentere hvordan badevannskvaliteten har vært. Derimot fungerer de dårlig som metode for å kunne varsle publikum når badevannet er forurenset. Når analyseresultatene foreligger har allmennheten allerede blitt utsatt for risikoen. Ettersom forurensningsepisoder kommer og går, er det mulig at badestrender er stengt lengre enn nødvendig fordi det også tar ett døgn å få vite om badevannskvaliteten er god igjen. Derfor er det et behov for analysemetoder som er raskere enn de tradisjonelle metodene.

Målsetting

Colifast AS har jobbet med å utvikle hurtige metoder for påvisning av bakterier i vann. Metodene skal være

like sensitive og spesifikke som standard metodene, og de skal være raskere. I dette prosjektet har målsetningen vært å finne ut om Colifast teknologien kan brukes til å analysere badevann på et MPN format (se nedenfor).

Strategi

Hvordan skulle vi så gå frem for best å kunne finne ut om Colifast teknologien kan brukes til analysering av badevann? Det første skrittet var å ta kontakt med Kontor for miljørettet helsevern i Bærum kommune for å finne ut hvordan analysering av badevann blir gjort per i dag. Vi fikk være med ut en dag kommunen skulle hente badevannsprøver, og lærte hvor viktig det er at prøven blir tatt der vannet er mest mulig representativt for hele badeplassen. Prøvene bør taes i de frie vannmasser, hvor vannedybden er minst 1 meter, og minst et par meter fra strandkanten. Prøvetakingen bør foregå tidligst mulig på morgenen, da bakterieinnholdet fra en eventuell kloakkpåvirkning vil være størst da, siden sollys er vist å ha noe ødeleggende effekt på tambakterier. En nærmere beskrivelse av bakteriologisk prøvetaking er gitt i Norsk Standard NS 4789, 1.utg 1990. Det neste skrittet var å samle masse badevannsprøver i løpet av sommeren og analysere med Colifast teknologien. Disse resultatene skulle så bli sammenlignet med den tradisjonelle membranfiltermetoden analysert både internt hos Colifast AS og eksternt hos Næringsmiddeltilsynet i Asker og Bærum.

Hva er Colifast teknologien ?

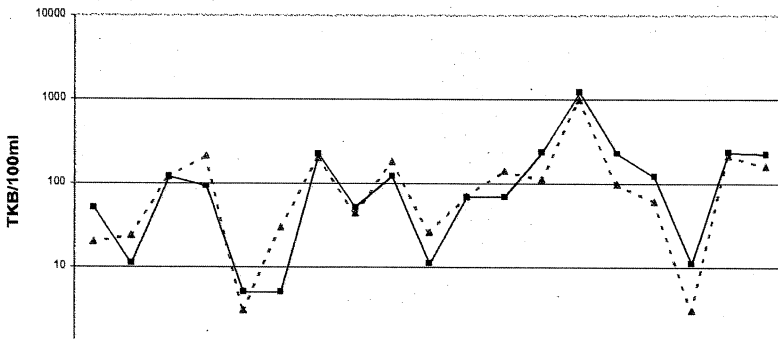
Colifast AS har utviklet en teknologi for analysering av bakterier i forskjellige typer vann som, ferskvann i innsjø og elv, sjøvann, drikkevann (råvann og renvann m.v.), flaskevann og prosessvann. Teknologien kan påvise koliforme og termotolerante koliforme bakterier i vannprøver, samt heterotrofe bakterier og *Pseudomonas aeruginosa*. Colifast metoden kombinerer et selektivt vekstmedium med et automatisert analyseapparat. Vekstmediet for koliforme og termotolerante koliforme bakterier inneholder et fluorogent substrat som fluorescerer etter hydrolyse av et enzym (β -galaktosidase) som finnes i disse bakteriene (se Figur 1).

De to gruppene koliforme og termotolerante koliforme bakterier skilles ved forskjellig inkubasjonstemperatur i analyseapparatet, hhv. 37 og 44 °C. Inhibitorer i mediet hindrer vekst av andre bakterier. Fluorescensen som blir produsert i hydrolyseaksjonen, måles av analyseapparatet. Økning i

fluorescens betyr tilstedeværelse av koliforme/termotolerante koliforme bakterier, og dess flere bakterier det er i vannprøven, dess tidligere ser man en utvikling av fluorescens. Det tar 2-12 timer å få analyseresultatene med Colifast metoden, avhengig av mengde bakterier tilstede og analyseformat (TTD, hydrolyse) (6).

MPN format

MPN (most probable number = mest sannsynlige antall bakterier) format er en måte å kvantifisere bakterier som vokser i flytende media på. Vannprøven distribueres da på flere rør som inneholder vekstmedium, for eksempel 10 x 10ml. Ved å telle antall rør som gir positiv reaksjon på bakterier, kan man utfra en statistisk utregnet tabell finne en MPN verdi på hvor mange bakterier det var i vannprøven. I tabell 9221.III i Standard Methods (7) er vist MPN verdier for 10 x 10ml prøve som rangerer fra 1,1-23,0 cfu/100ml. Dersom man analyserer 10 x 1ml prøve gir dette et deteksjonsområde på 11-230 cfu/100ml, og 10 x



Figur 1. Colifast-teknologien for påvisning av koliforme og termotolerante koliforme bakterier i vann, er basert på en enzymatisk reaksjon hvor substratet blir hydrolysert av (β -D-galaktosidase og et fluorescerende produkt blir dannet (4-methylumbelliferone).

0.1ml vil gi et resultat i området 110-2300 cfu/100ml. Dermed kan 10 x 1ml formatet fortelle om vann kvaliteten er god (<100 TKB/100ml) eller mindre god (100-1000 TKB/100ml), og 10 x 0.1ml formatet kan skille mellom god/mindre god (<1000 TKB/100ml) og ikke akseptabel (>1000 TKB/100ml) badevannskvalitet.

Badevannsprosjekt i Bærum

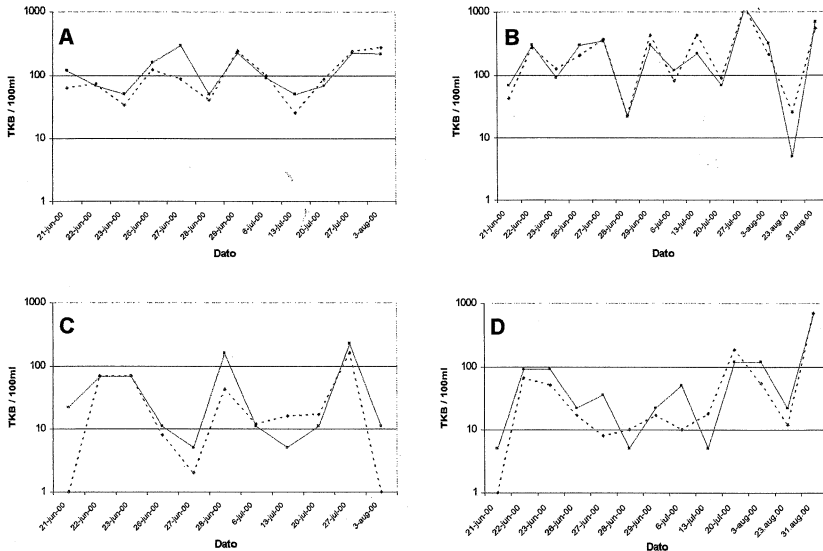
Sommeren 2000 ble det gjennomført et badevannsprosjekt hos Colifast hvor badevann i Bærum ble analysert for innhold av termotolerante koliforme bakterier (TKB). Til sammen 56 vannprøver fra 8 forskjellige steder ble undersøkt, hvorav de fleste vannprøvene var fra strender på Kadettangen og Kalvøya (Nord/Sommerklubben (N), Båtbukta (SV) og Storbukta/Badebukta (S)). Prøvene ble tatt minst en gang i uka. Kontor for miljørettet helsevern i Bærum kommune har ansvar for å kontrollere kvaliteten på badevannet. Hver torsdag morgen i badesesongen tar de ut 6-12 badevannsprøver som leveres til Næringsmiddeltilsynet i Asker og Bærum for analysering. Dette ble gjort i perioden 18.5 – 3.8 sommeren 2000. I uke 27-31 ble det gjennomført et samarbeidsprosjekt med Colifast AS. Bærum kommune hentet da vann i 2 parallelle flasker hvorav en ble levert til Næringsmiddeltilsynet i Asker og Bærum (NMT) og den andre til Colifast AS. Vannprøvene ble analysert med tradisjonell membranfiltermetode for termotolerante koliforme bakterier (mFC) i 3 paralleller internt

hos Colifast og i 1-2 paralleller hos NMT. I tillegg ble vannprøvene analysert med et MPN format på Colifast Analyser apparatet. I uke 25-26 og uke 34-35 ble ekstra vannprøver hentet og analysert av Colifast for å samle mer data. Vann fra samme flaske ble testet parallelt på Colifast Analyser og tradisjonell membranfiltermetode (mFC) internt. Alle vannprøvene ble analysert ved 44°C både med Colifast-metoden og standardmetoden.

Colifast MPN-metoden sammenlignet med standard metoden målt internt

Det var god overensstemmelse mellom MPN-verdiene målt med Colifast Analyser instrumentet og antall bakterier analysert med standardmetoden (mFC). Colifast-metoden på MPN-format ga resultat etter 8-12 timer, mens standardmetoden trengte 18-24 timer før analyseresultatene var klare. Alle prøver som inneholdt mer enn 100 TKB/100ml viste dette etter 8 timer med Colifast MPN-metoden. Lavere nivåer ga svar etter 10 timer som ble bekreftet etter 12 timer. Trenden for badevannskvaliteten gjennom sommeren ved fire av badestrendene som ble undersøkt er vist i Figur 2.

Av Figur 2 ser man at trenden for badevannskvaliteten målt med Colifast MPN-metoden følger trenden målt med standardmetoden internt. 89% av prøvene (n=56 prøver) testet med 10 x 1ml MPN viste overens-



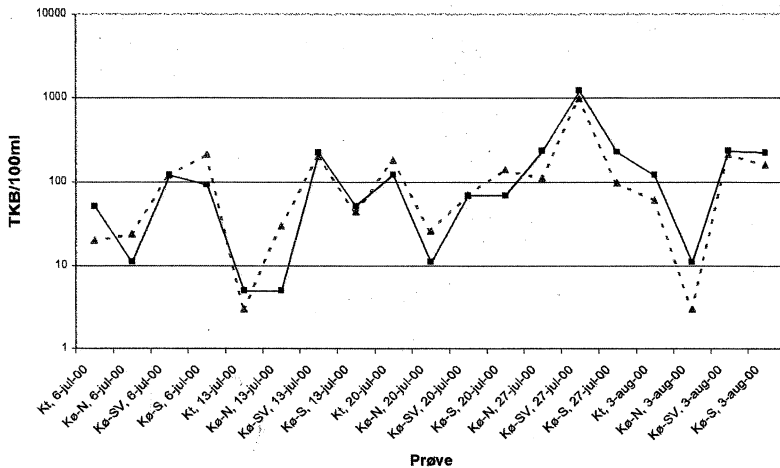
Figur 2. Innhold av termotolerante koliforme bakterier (TKB) i badevannsprøver fra A) Kalvøya Storebukta/Badebukta, B) Kalvøya Båtbukta, C) Kalvøya Nord/Sommerklubben og D) Kadettangen i Bærum. Alle prøvene ble analysert internt hos Colifast med tradisjonell membranfilter metode, mFC (stiplet linje --◆--) og med Colifast MPN metode (heltrukken linje —■—). Normene for badevannskvalitet er god (<100 TKB/100ml), mindre god (100-1000 TKB/100ml) og ikke akseptabel (>1000 TKB/100ml).

stemmelse mellom de to metodene om når kvaliteten på vannet var god (<100 TKB/100ml) eller mindre god (100-1000 TKB/100ml). De resterende 11% av prøvene hadde et avvik på maksimum ± 50 TKB i forhold til grensen på 100 TKB/100ml. Av resultatene målt med 10 x 0,1ml MPN-formatet, som skulle skille mellom god/mindre god (<1000 TKB/100ml) og ikke akseptabel (>1000 TKB/100ml) badevannskvalitet (n=18 prøver), var det 78% overensstemmelse med standardmetoden målt internt. To av de mest avvikende prøvene viste 700 TKB med Colifast-metoden, mens standardmetoden ga mer enn 1000 TKB. Dermed kan man

si at dersom Colifast-metoden gir 1000 +/- 300 TKB/100ml, er badevannskvaliteten på grensen til å være uakseptabel, og dermed er det ikke tilrådelig å bade.

Colifast MPN-metoden sammenlignet med Næringsmiddeltilsynets resultater

I løpet av uke 27-31 ble badevannsprøver hentet av Bærum kommune i to flasker, hvorav en ble levert til Næringsmiddeltilsynet i Asker og Bærum (NMT) og den andre til Colifast AS. NMT analyserte vannprøvene på tradisjonell membranfil-



Figur 3. Innhold av termotolerante koliforme bakterier (TKB) i badevannsprøver fra Kadettangen (Kt), Kalvøya Nord/Sommerklubben (Kø-N), Kalvøya Båtbukta (Kø-SV) og Kalvøya Storebukta/Badebukta (Kø-S). Alle prøvene ble analysert med tradisjonell membranfilter metode hos Næringsmiddeltilsynet i Asker og Bærum (stiplet linje --▲--) og med Colifast MPN-metoden (heltrukken linje —■—). Normene for badevanns kvalitet er god (<100 TKB/100ml), mindre god (100-1000 TKB/100ml) og ikke akseptabel (>1000 TKB/100ml)

termetode, og disse resultatene er vist sammen med Colifast MPN-resultater i Figur 3.

Resultatene målt med Colifast MPN-metoden stemte bra overens med NMT sine resultater, med en overensstemmelse på 84% (n=19 prøver) i forhold til grenseverdiene på 100 og 1000 TKB/100ml. De 3 avvikende resultatene var innenfor 100 ± 40 og 1000 ± 20 TKB/100ml, og dette er ikke større forskjell enn at det kan forklares med tilfeldig spredning av bakterier i de to separate vannflaskene.

Konklusjon

Colifast sin hurtige teknologi for deteksjon av termotolerante koliforme bakterier (TKB) i vann ble sammen-

lignet med den tradisjonelle membranfiltermetoden (mFC) for badevannsprøver analysert i Bærum sommeren 2000. Colifast MPN-metoden ga svar på analyseresultatene etter 8-12 timer, mens standardmetoden trenger 18-24 timer før svaret kan leses av. Alle prøver som inneholdt mer enn 100 TKB/100ml viste dette etter 8 timer med Colifast MPN-metoden. MPN verdier målt med Colifast analyseapparatet viste god korrelasjon med standardmetoden. Resultatene viste at det var hhv. 89% og 78% overensstemmelse om badevannskvaliteten for de to MPN-formatene (10 x 1ml og 10 x 0,1ml) sammenlignet med standardmetoden målt internt. Colifast-metoden kan gi svar på om badevannet inneholder mer enn

100 TKB/100ml (grensen for god-/mindre god) i løpet av arbeidsdagen, og dermed kan badegjester som ønsker en ettermiddags dukkert bli advart dersom innholdet av TKB er høyt og det er helserisiko ved å bade. Colifast-teknologien har vist seg å gi gode resultater på kvantifisering av TKB i badevann ved å benytte et MPN-format. Denne metoden kan også brukes på andre typer vann som for eksempel råvann til vannverk.

Takk til Kontor for miljørettet helsevern i Bærum Kommune ved Rune Skatt for hyggelig samarbeid med opplæring i prøvetaking av badevann og levering av vannprøver. Takk til Næringsmiddeltilsynet i Asker og Bærum for at vi fikk sammenligne våre resultater med deres. Takk også til Colifast FoU avdeling og andre som har hjulpet til med prosjektet.

Litteratur

1. Baalsrud, K., 1994. Klassifisering av miljøkvalitet i fjorder og kystfarvann. Grunnlagsrapport om virkninger av tarmbakterier. Norsk insti-

tutt for vannforskning (NIVA). Rapport 1. Nr 3127, 31s.

2. Cabelli, V. J., 1980. Health effects criteria for marine recreational waters. United States Environmental Protection Agency.

3. Cabelli, V. J., 1981. Epidemiology of Enteric Viral Infections. In: (Goddard, M. and Butler, M. (Eds.) Viruses and wastewater treatment. P. 291-304. Pergamon Press.

4. Eykyn, S. J., 1988. Health hazards from British beaches. British medical journal 296, no. 6635, 1484.

5. Folkehelse, 1994. Vannkvalitetsnormer for friluftsbad. Vedlegg til rundskriv IK-21/94.

6. Samset, I.D., L.F. Hermansen, og J.D. Berg, 2000. Utvikling av sensor for overvåking av vannbehandlingssprosesser og hygienisk kvalitet av drikkevann. Drikkevannsforskning mot år 2000 under Kursdagene ved NTNU – 2000.

7. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 1998. 20th ed. American Public Health Association